Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau.
Direktor: Professor Dr. C. Prausnitz

Ueber die anaerobe Züchtung des Bazillus influenzae (Pfeiffer)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Medizin und Chirurgie bei der Hohen medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Adolf Eirund

Breslau 1929

Gedruckt mit Genehmigung der hohen medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

---

Referent: Professor Dr. Prausnitz

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Nachdruck verboten.

Ueber die anaërobe Züchtung des Bacillus influenzae (Pfeiffer).

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Dir.: Prof. Dr. C. Prausnitz).]

Von **Adolf Eirund.**

Bei Versuchen über die Wachstumsbedürfnisse des Bacillus influenzae (Pfeiffer) hat Kopp die von Kollath angegebenen Züchtungsmethoden nachgeprüft und bestätigen können, daß man die beiden verschiedenen wachstumsfördernden Stoffe aus Blut bzw. Pflanzen isoliert erhalten kann, und daß unter aëroben Bedingungen diese beiden Stoffe das Wachstum des I.B. ermöglichen, sofern die anderen notwendigen Nährstoffe in dem Nährboden enthalten sind. Beim Studium der einzelnen Bestandteile fand sie eine neue Eigenschaft der beiden Faktoren, des X- und V-Faktors, die völlig unerwartet war. Sie züchtete die I. B. aërob und anaërob auf Nährböden, die isoliert nur den einen von beiden Faktoren oder in Gemisch enthielten. Während unter aëroben Bedingungen nur auf dem Gemisch von X- und V-Substanz die I.B. in Passagen fortzuzüchten waren, gelang das überraschenderweise bei anaëroben Verhältnissen nur bei Abwesenheit des X-Faktors. Wenn der V-Faktor im Nährboden allein vorhanden war, wuchsen die I.B. anaërob in Passagen, behielten normale Formen, und angeblich wuchsen sie sogar in den Passagen stärker. Kopp schließt daraus, daß unter aëroben Bedingungen der X-Faktor (also das Bluteisen) nicht, wie bisher angenommen, den Sauerstoff auf die I.B. überträgt, sondern im Gegenteil anaërobe Bedingungen in aërob bebrüteten Nährboden schafft. Diese Beobachtung ist von weit größerer als nur mikrobiologischer Bedeutung, da sie eine neue, bisher völlig unbekannte Funktion des Blutfarbstoffes vermuten läßt. Die Anregung zur eingehenden Untersuchung dieser Frage gab Herr Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer.

Bevor aber an das Studium dieser Erscheinung herangegangen werden konnte, war es notwendig, die Angaben von Kopp nachzuprüfen, und dabei nicht nur zahlreiche I.B.-Stämme zu benützen, sondern auch das Verhalten der Stämme nach Form und Größe der Kolonien und nach Form der Bakterien unter diesen nach unseren bisherigen Anschauungen abnormen Bedingungen zu prüfen. Erst wenn diese Prüfung ergab, daß in der Tat normale Kolonien mit normalen Bakterienformen bei dieser Züchtungsmethode zu erhalten waren, konnten weitere Fragestellungen aufgeworfen werden. In den hier mitgeteilten Versuchsreihen ist nur der 1. Teil dieser Arbeit behandelt. Die Fragestellungen, die zu beantworten waren, lauteten:

1) Wächst der I.B. anaërob auf gewöhnlichem Nähragar?

2) Wächst der I.B. in der Tat anaërob ohne Blut, sofern nur der V-Faktor im Nährboden vorhanden ist?

3) Wenn ja, sind die Formen der Kolonien und Bakterien normal, oder welche Veränderungen treten ein?

4) Gilt der positive Befund für alle I.B.-Stämme, oder kann man, ebenso wie bei anderen Stoffwechselversuchen des I.B., besondere Gruppen unterscheiden?

5) Stehen diese Gruppen in irgendeinem Zusammenhang mit dem Fundort (Sputum, Eiter usw.)?

6) Lassen sich einfache Stoffwechselvorgänge auffinden, die möglicherweise auf besondere Eigenschaften der anaërob wachsenden Stämme hindeuten?

Die Versuche, den I.B. anaërob zu züchten, sind nicht neu. R. Pfeiffer hat bereits in seiner ersten zusammenfassenden Arbeit über „Die Aetiologie der Influenza" Versuche mitgeteilt, die sich mit der aëroben und anaëroben Züchtung des I.B. befaßten. Er leitete dazu in das Kulturgefäß frisch entwickeltes chemisch reines CO-Gas, bis kein Sauerstoff mehr vorhanden war. Bei vollständigem Fehlen des freien Sauerstoffs wuchsen die I.B. auf Taubenblutagar nicht. Sobald aber ein wenig Sauerstoff zugelassen wurde, wuchsen nach weiteren 24 Std. die I.B. Dabei waren noch reichliche Mengen des CO-Gases vorhanden und es war daher anzunehmen, daß der gesamte Blutfarbstoff sich in CO-Hämoglobinform in dem Nährboden befand. Da es als solches weder Sauerstoff aufnehmen noch abgeben konnte, war einwandfrei dargetan, daß die Fähigkeit des Hämoglobins, lockere, leicht dissoziierende Sauerstoffverbindungen einzugehen, für die I.B. gleichgültig war. Da auch das auf 70° erhitzte und durch Kochen veränderte Hämoglobin ein Wachstum der I.B. gab, vermutete er, daß das Bluteisen der Träger der Wachstumsförderung sei.

Fildes berichtet, daß der I.B. auf geeigneten Nährböden anaërob nicht schlechter wüchse als aërob, jedoch bald absterbe. Nach seiner Ansicht ist nicht der Sauerstoff der Luft, sondern der in dem Nährboden enthaltene bzw. gebundene Sauerstoff die Sauerstoffquelle für das Wachstum der I.B. Der verbrauchte Sauerstoff würde durch Nachdiffusion aus der Luft bei aërober Züchtung wieder ersetzt. Der gebrauchte Sauerstoff des Nährsubstrates würde durch das Eisen des Hämoglobins für die I.B. „aktiviert".

Pfeiffer und Prausnitz ist es gelungen, den I.B. anaërob auf gleichen Nährböden wie den Bazillus pneumosintes von Olitsky und Gates zu züchten. Durch diese Versuche war die Lehre von der strengen Aërobiose der I.B. schon lange nicht mehr aufrechtzuerhalten. Doch läßt sich in keiner Weise aus ihnen ein Urteil über die zur Vermehrung wirklich notwendigen Substanzen etwas aussagen, weil im Blut eben immer beide fördernden Substanzen vorkommen.

Ueber die Eigenschaften der beiden wachstumsfördernden Substanzen wissen wir durch die Arbeiten von Davis, Thjötta und Avery, Knorr, Knorr und Gehlen, Kollath, daß der X-Faktor eng verwandt ist mit dem Blutfarbstoff, und daß seine Wirkung an sauerstoffaktives Mineral (Fe oder Mn) gebunden ist. Dieses kann nach vorheriger Bestrahlung von Ferrocyankalium mit ultraviolettem Licht in eine Vorform und dann durch bestimmte Bakterien zu dem endgültig wirksamen Stoff aufgebaut werden. Bei aërober Züchtung muß er unbedingt im Nährboden vorhanden sein, wenn die I.B. wachsen sollen. In idealer Form ist der X-Faktor im Blutfarbstoff gegeben; er kommt aber auch in allen Pflanzen vor und wird auch von Bakterien gebildet (Analyse des Riesenwachstums und Ammenwachstums) (Kollath). Man bekommt auch ein Wachstum der I.B., wenn man sterile Pflanzen in einer Schichtdicke von 1—3 mm mit Agar übergießt. Die Beobachtung Pfeiffers, daß CO-Hämoglobin bei genügenden Mengen von Sauerstoff ein Wachstum der I.B. ergibt, obwohl es selbst den Sauerstoff nicht überträgt, eine Beobachtung, die die Beurteilung der Rolle des X-Faktors sehr erschwert, ist bis jetzt noch nicht geklärt. Sie könnte darauf hinweisen, daß dem X-Faktor zwei verschiedene Wirkungen zukommen, von denen nur die eine durch das CO-Gas ausgeschaltet wird.

Von dem V-Faktor, dessen genaue chemische Definition noch nicht gelungen ist, wissen wir, daß er vitaminähnliche Eigenschaften hat. Man schließt das bisher daraus, daß er 1) in denselben rohen Ausgangsmaterialien wie die Vitamine vorkommt, 2) lebensnotwendig ist, 3) durch ähnliche Maßnahmen zerstört wird, wie die wasserlöslichen Vitamine, 4) daß er ausgesprochene akzessorische Eigenschaften hat, ohne 5) selbst ein Kalorienträger zu sein, daß ihm aber 6) „Fermenteigenschaften" zu fehlen scheinen. Vielmehr weisen

die bisherigen Beobachtungen darauf hin, daß es sich um eine chemisch vielleicht charakterisierbare, dem Vitamin B-ähnliche, reduzierend wirkende Substanz handeln dürfte. Im Verlaufe der im folgenden beschriebenen Versuche wurde zum Teil ein Extrakt verwendet, den Kollath aus dem „Phosphocrescin" nach der von Peters angegebenen Methode der Gewinnung des Vitamin B aus Hefe herstellte. Es hat sich dabei gezeigt, daß eine im Bakterien- und Tierversuch (Taubenberiberi) sehr wirksame Substanz, frei von Phosphatiden, erhalten werden konnte, die aber auch in saurer Lösung und im Eisschrank nur wenige Monate haltbar ist. Auch dieser Befund spricht für die mögliche Identität des Vitamin B und des V-Faktors (Kollath wird an anderer Stelle genauer auf diese Verhältnisse eingehen). Es wird darauf verzichtet, diese Identitätsfrage zur Debatte zu stellen, da sie erst nach der chemischen Reindarstellung beantwortet werden kann.

Unveröffentlichte Versuche von Kollath haben ergeben, daß der X-Faktor sehr gut durch Hämin in alkalischer Lösung, also durch alkalisches Hämatin zu ersetzen ist, aber nur aërob und in Verbindung mit dem V-Faktor, während es für sich allein niemals Wachstum gibt. Dies sind Befunde, die nach den Blutfarbstoffderivatversuchen von Kalkbrenner, Davis und Olsen zu erwarten waren. Die Wirkung des X-Faktors geht nicht aus von den eisenfreien Blutfarbstoffderivaten (Hämatoporphyrin). Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß völlig entsprechend den alten Versuchen und Vermutungen Pfeiffers den eisenhaltigen Blutfarbstoffderivaten eine ganz besondere physiologische Wirkung zukommen muß. Mit einem Vorkommen von eisenhaltigen, dem Hämin entsprechenden Verbindungen müssen wir seit den Arbeiten von McMunn, Keilin (Cytochrom) und Warburg (zellgebundenes Hämin als Bestandteil des Atmungsfermentes) in vielen Zellen von Tieren, Pflanzen, Hefen (Hans Fischer, Schumm) und wahrscheinlich auch Bakterien rechnen. Hier kommen vor allem jene Bakterien in Frage, die die typische Form des Neisserschen Ammenwachstums für den I.B. ergeben, weniger dagegen jene, bei denen das Riesenwachstum (Grassberger) beobachtet wird. Dieser anscheinenden Ubiquität entsprechend, findet sich der V-Faktor scheinbar stets unter natürlichen Bedingungen mit den Stoffen vergesellschaftet, die die Wirkung des X-Faktors haben. Die von Kollath angegebene Methode der Trennung dieser beiden Faktoren ermöglichte es erst, mit großer Genauigkeit die Eigenschaften der isolierten Substanzen zu studieren.

Herstellung der Nährböden.

Für die im folgenden angestellten Versuche wurde die von Kollath angegebene Methode für die Herstellung der Nährböden für die I.B. modifiziert. An Stelle der Blutkörperchenlösung (X-Faktor) wurde nach Kopps Vorgang kristallisiertes Hämoglobin (Merck) in einer Verdünnung von 1 : 75000, die sich in Vorversuchen als (aërob) gerade noch ausreichend erwiesen hatte, benützt. Als V-Faktor diente meist das Phosphocrescin (hergestellt von der Fa. Pharmagans, Pharmazeutisches Institut L. W. Gans A.G. Oberursel), in einigen Versuchen der daraus nach Peters Methode zur Herstellung des Vitamin B gewonnene Extrakt (s. o.). Als Agar diente 2½proz. gewöhnlicher Nähragar mit einem $p_H = 7{,}6$; die stärkere Alkaleszenz wurde gewählt wegen der sauren Reaktion des Phosphocrescins. Dieses selbst wurde angewendet in einer Verdünnung von 1 : 15000, die bei einer Verdünnung des X-Faktors von 1 : 75000 zu einer isolierten Koloniebildung der I.B. führte. Die Sterilisation erfolgte, da dieser Phosphatidkomplex ein längeres Erhitzen nicht verträgt, mittels Filtration durch Berkefeld-Kerzen. Die Hämoglobinlösung wurde nach Zufügen zum Agar durch Kochen sterilisiert.

Während die aëroben Platten in der üblichen Weise bei 37° bebrütet wurden, wurde für die anaërobe Bebrütung der Anaërobenapparat von Mc Intosh und Fildes, hergestellt durch die Firma Baird und Tatlock, London gewählt, mit dem auch Kopp gearbeitet hat. Bei diesem Apparat wird der Sauerstoff durch Einleiten von Wasserstoff mittels Katalyse durch glühenden Palladiumasbest in Wasser verwandelt; die Anaërobiose war in allen Fällen vollkommen (Indikator: alkalische Methylenblau-Traubenzuckerlösung).

Beurteilung der Ergebnisse.

Die Frage nach der Beurteilung des Wachstums der I.B. wird dadurch kompliziert, wie Kollath zeigen konnte, daß die I.B. durch reichliche Ueberimpfung auf festen und natürlich auch auf flüssigen Nährböden ein Scheinwachstum zeigen können. Hier spielen Diffusionsvorgänge aus den toten Bakterien eine entscheidende Rolle; und zwar können Stoffe aus den mitübertragenen toten Bakterien in den Nährboden diffundieren, und dann von den überlebenden Bakterien auf dem sonst zur Ernährung unzureichenden Agar verwendet werden, eine Erscheinung, für die Kollath den Namen „Kannibalismus" vorgeschlagen hat. Um diesen Vorgang einerseits zu beobachten und um andererseits den Wert eines Nährbodens richtig beurteilen zu können, wurde sowohl die Form des Massen- oder Rasenausstriches wie die des Verdünnungsausstriches gewählt. Bei der letzten Form erhält man isolierte Kolonien, deren Größe und Form ein Maß für die Brauchbarkeit eines Nährbodens ist. Von der ersten Kultur auf jedem Nährboden wurden, sofern Wachstum eingetreten war, Subkulturen angelegt. Sämtliche Kulturen wurden mikroskopisch in Ausstrichen und Klatschpräparaten auf Reinheit, Form, sowie Färbbarkeit geprüft. Ferner wurde die Koloniegröße mit dem Objektiv AA 17 mm Zeiss und dem Okularmikrometer Nr. 3 Zeiss in der Art gemessen, daß der Durchschnittswert an den zehn größten Kolonien, die isoliert gewachsen waren, bestimmt wurde. Die gefundenen Werte wurden umgerechnet in μ. In den mikroskopischen Präparaten wurde eine besondere Aufmerksamkeit den Wuchsformen geschenkt, die nach der von Kollath und Leichtentritt angegebenen Methode in folgende Klassen eingeteilt wurden: n = normale, kokkoide Stäbchen; st = längere, deutliche Stäbchen; v = gebogene, vibrionenähnliche Formen; sp = spirochätenähnliche Formen; k = Kugelformen. Die Menge der im Präparat vorhandenen Formen wurden durch die Zahlen 1—5 gekennzeichnet. Von anderen Autoren angegebene Influenzaformen (Grassberger, Knorr, Levinthal) zu beschreiben, erübrigt sich, da sich durch geeignete Züchtungsbedingungen die Stämme morphologisch umwandeln lassen und die Form somit nicht ausschließlich zum Individualcharakter des Stammes gehören dürfte.

Bevor diese folgenden Versuche angestellt wurden, wurden sämtliche 19 Stämme der Sammlung des Institutes auf Reinheit in Verdünnungsausstrichen geprüft. Ea fand sich, daß eine größere Zahl bei mikroskopisch gleichem Aussehen der Bazillen zwei verschiedene Kolonieformen bildeten, von denen die eine Kolonie das typische Aussehen (rund, klar, ohne Strukturzeichnung) hatte, während die andere zackig und fein granuliert erschien. Diese verschiedenen Kolonien wurden getrennt gezüchtet, und zwar wurde der mit runder und klarer Kolonie wachsende Teil jedes Stammes mit I, der mit zackiger, gekörnter Kolonie wachsende Teil mit II bezeichnet. Hinsichtlich des anaëroben Wachstums ergaben die so getrennten Stämme teilweise verschiedene Ergebnisse. Dieser Befund spricht für die Möglichkeit von Mutationsformen auch beim I.B. Aus den Namen der Stämme ist ersichtlich, daß nicht nur aus Rachen und Sputum gezüchtete I.B.-Stämme angewendet wurden, sondern auch gleich-

zeitig eine größere Zahl, die aus Konjunktivalsekret gewonnen war (Augenbaz. Greifswald 1, Augenbaz. Greifswald 2 I und II, Augenbaz. Lister-Institut, Augenbaz. Köln), ferner einer aus dem Liquor cerebrospinalis und schließlich der zur gleichen Gruppe gehörige Bazillus Bazillus Cohen und der Bacillus haemoglobinophilus canis (Pfeiffer). Während es bis auf den letzten noch nicht gelungen ist, Unterschiede in den Ernährungsbedürfnissen der I.B. nach ihrem Fundort aufzufinden, erscheint es nach den folgenden Ergebnissen immerhin bemerkenswert, daß sich unter den Stämmen, die sich anaërob bei Anwesenheit des V-Faktors fortzüchten ließen, nur solche gefunden haben, die aus Sputum und Rachen und ähnlichen Fundorten typischer Natur stammten; aber auch hier verhielten sich durchaus nicht alle Stämme gleichen Fundortes gleichwertig.

Versuchsergebnisse.

Versuch A: Wachstum der ersten Impfung auf gewöhnlichem 2½proz. Nähragar, ohne jeden Zusatz, aërob und anaërob 48 Std. bebrütet. Massen- und Verdünnungsausstrich.

Tabelle I.

Bezeichnung der Stämme	Gewöhnlicher 2½proz. Nähragar			
	aërob		anaërob	
	Massenimpfung	Verdünnungsausstrich	Massenimpfung	Verdünnungsausstrich
1. 954 I	(+)	—	+	+
2. 954 II	(+)	—	+	+
3. H 6 I	(+)	—	+	+
4. H 6 II	(+)	—	+	+
5. 1085	(+)	—	+	+
6. Halle	(+)	—	+	—
7. B.P. 4	(+)	—	+	—
8. H 1	(+)	—	+	—
9. Kinderklinik I	(+)	—	+	—
10. „ II	(+)	—	+	—
11. 945	(+)	—	+	—
12. 693 I	(+)	—	+	—
13. 693 II	(+)	—	+	—
14. 1952 I	(+)	—	+	—
15. 1952 II	(+)	—	+	—
16. Augenbaz. Greifswald 1	(+)	—	+	+
17. „ „ 2 I	(+)	—	+	—
18. „ „ 2 II	(+)	—	+	—
19. „ Lister Institut	(+)	—	+	—
20. „ Köln	(+)	—	+	—
21. Baz. M. (Bronchiektasie) I	(+)	—	+	—
22. „ „ „ II	(+)	—	+	—
23. Liquor Köln I	(+)	—	+	—
24. „ „ II	(+)	—	+	—
25. Baz. Cohen	(+)	—	+	+
26. „ Kanin	(+)	—	+	—
27. Baz. canis I	(+)	—	+	+
28. „ „ II	(+)	—	+	+

Zeichenerklärung: (+): Schwaches Wachstum (im wesentlichen Kannibalismus).
+: Gutes Wachstum (isolierte Koloniebildung).
—: Kein Wachstum.

Bei diesem Versuch, der 3mal ausgeführt wurde, ergab sich aërob, wie zu erwarten war, kein Wachstum mit Einzelkoloniebildung; die Massenausstriche ließen geringen Kannibalismus erkennen. In den Massenausstrichen ließen

bei den aëroben Platten eine größere Zahl von Stämmen nach 24 Std. im Klatschpräparat nur noch Degenerationsformen erkennen, die zum größten Teil schwach färbbar waren; nur einzelne Stämme enthielten noch gut färbbare normale Formen, ein Charakteristikum für den Kannibalismus [1]). Völlig fehlte bei allen Stämmen die Entwicklung von distinkten, runden Einzelkolonien. Anaërob dagegen waren, wie Klatschpräparate zeigten, bei den Massenausstrichen zahlreiche, normale I.B.-Formen, neben wenig degenerierten, zu sehen. 9 Stämme wuchsen bei Verdünnungsausstrichen in erster Impfung in distinkten, runden Einzelkolonien. Die Klatschpräparate davon zeigten neben spärlichen normalen Formen fast ausnahmslos Involutionsformen, st-, sp-, k-Formen, worin man ein Zeichen für einen unzureichenden Nährboden ersehen kann. Bereits in der ersten Passage hörte aber diese Einzelkoloniebildung auf gewöhnlichem, anaërob bebrütetem Nähragar vollkommen auf. Erwähnt sei noch, daß Stichkulturen in 2½proz. Agar (Hochagar) mit sämtlichen 28 Stämmen angelegt, restlos negativ verliefen (Bebrütungszeit 48 Std.). Es scheint demnach den Methoden der anaëroben Züchtung, die wohl in ihren Bedingungen verschiedene Momente für eine Wachstumsmöglichkeit zum Ausdruck kommen lassen, eine gewisse Bedeutung zuzukommen.

Tabelle II.

Bezeichnung der Stämme	A. Wachstum der ersten Impfung mit 5 Passagen auf gew. Nähragar mit V-Faktor anaërob bebrütet				B. Wachstum unter gleich. Bedingungen, aërob bebrütet	
	1. Kultur	Passagen: 1	2	5	1. Kultur	1. Passage
1. 954 I	+	+	—	—	—	—
2. 954 II	—	—	—	—	—	—
3. H 6 I	+	+	+	+	+	—
4. H 6 II	+	+	+	+	+	—
5. 1085	+	+	+	+	+	+
6. Halle	+	+	+	+	+	+
7. P.B. 4	—	—	—	—	+	+
8. H 1	+	+	+	+	—	—
9. Kinderklinik I	+	+	+	+	—	—
10. „ II	+	+	+	+	+	—
11. 945	+	—	—	—	+	—
12. 693 I	—	—	—	—	—	—
13. 693 II	—	—	—	—	+	—
14. 1952 I	+	+	+	+	—	—
15. 1952 II	+	+	+	+	—	—
16. Augenbaz. Greifswald 1	+	+	—	—	+	—
17. „ „ 2 I	+	+	—	—	+	—
18. „ „ 2 II	+	+	—	—	+	—
19. „ Köln	+	+	—	—	—	—
20. „ Lister Institut	+	—	—	—	+	—
21. Baz. M. (Bronchiektasie) I	+	+	—	—	—	—
22. „ „ „ II	+	+	—	—	—	—
23. Liquor Köln I	—	—	—	—	—	—
24. „ „ II	—	—	—	—	—	—
25. Baz. Cohen	+	+	+	+	+	—
26. „ Kanin	+	+	—	—	—	—
27. „ canis I	+	—	—	—	—	—
28. „ „ II	+	—	—	—	+	—

1) Die Klatschpräparate wurden nach Gram gefärbt, um Verunreingungen ausschließen zu können.

Versuch B: Züchtung auf gewöhnlichem 2½proz. Nähragar bei Zusatz des X-Faktors, aërob und anaërob 48 Std. bebrütet.

Die aërobe und anaërobe Züchtung dieser Stämme auf gewöhnlichem Nähragar bei Zusatz des X-Faktors ergab niemals Wachstum; aërob zwar noch in geringstem Maße in den Rasenausstrichen, aber niemals anaërob. Da nun verschiedene Stämme anaërob auf gewöhnlichem Nähragar ohne jeden Zusatz ein Wachstum in erster Kultur mit Einzelkoloniebildung zeigten, scheint die Gegenwart des X-Faktors unter anaëroben Bedingungen eine deutliche Hemmung zu bedeuten, was den Beobachtungen von Kopp entspricht. Diese Frage ist aber hier nicht weiter verfolgt, da sie über die Fragestellung hinausging. Denn es sollte nur die Wachstumsförderung durch den vitaminähnlichen Faktor, aber noch nicht die Hemmung durch den X-Faktor studiert werden.

Versuch C: Züchtung auf gewöhnlichem 2½proz. Nähragar bei Zusatz des V-Faktors[1]), anaërob und aërob bebrütet.

A. Wachstum der ersten Impfung mit 5 Passagen auf gewöhnlichem Nähragar, dem in der oben beschriebenen Weise der V-Faktor zugesetzt wurde; anaërob 48 Std. bebrütet.

Tabelle III. Größe und Form der Kolonien, die anaërob, 48 Stunden bebrütet auf gewöhnl. 2½proz. Nähragar mit V-Faktor wuchsen.

Bezeichnung der Stämme	Koloniengröße[2]) Passagen: 1	2	3	4	5	Form der Kolonien Passagen: 1	2	3	4	5
1. 954 I	364	—	—	—	—	r. g.	—	—	—	—
2. 954 II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. H 6 I	425	204	255	136	153	r. k. lichtbrechend	r. g.	r. leicht g.	r. g.	r. g.
4. H 6 II	189	204	255	204	204	dgl.	r. g.	dgl.	r. g.	r. g.
5. 1085	357	340	629	85	85	r. k. gemustert	r. g.	r. g.	r. g.	r. k.
6. Halle	391	187	170	170	187	r. k.	r. g.	r. g.	r. g.	r. g.
7. B.P. 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8. H 1	323	170	340	119	119	r. gef.	r. g.	r. g.	r. k.	r. g.
9. Kinderklinik I	425	170	170	170	170	r. k. hell	r. k.	r. k.	r. k.	r. k.
10. „ II	408	221	136	85	85	dgl.	r. k.	r. k.	r. k.	r. k.
11. 945	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12. 693 I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. 693 II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14. 1952 I	340	170	170	136	136	z. gemustert	z. g.	r. k. hell	r. k.	r. k.
15. 1952 II	425	255	170	136	136	dgl.	z. g.	dgl.	r. k.	r. k.
16. Augenbaz. Greifswald 1	102	—	—	—	—	gef.	—	—	—	—
17. „ „ 2 I	425	—	—	—	—	r. k.	—	—	—	—
18. „ „ 2 II	364	—	—	—	—	r. k.	—	—	—	—
19. „ Lister Institut	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20. „ Köln	544	—	—	—	—	r. k.	—	—	—	—
21. Baz. M. (Bronchiektasie) I	170	—	—	—	—	r. k.	—	—	—	—
22. „ „ „ II	170	—	—	—	—	r. k.	—	—	—	—
23. Liquor Köln I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. „ „ II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25. Baz. Cohen	646	238	255	136	153	r. k.	r. g.	r. g.	r. g.	r. g.
26. „ Kanin	276	—	—	—	—	—	r. k.	—	—	—
27. „ canis I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28. „ „ II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Zeichenerklärung: r. = rund, k. = klar, g. = gekörnt, gef. = gefasert, z. = zackig.

1) Das in diesen Versuchen benützte Phosphocrescin verdanke ich der Fa. Pharmagans, Pharmazeutisches Institut L. W. Gans A.-G. Oberursel, wofür ich an dieser Stelle meinen Dank ausspreche. 2) Die Koloniengröße ist in μ angegeben.

B. Wachstum der ersten Impfung mit 2 Passagen, aërob bebrütet unter sonst gleichen Bedingungen (s. Tab. II, S. 200).

Tabelle IV.

Mikroskopische Formen der Bakterien, die anaërob und aërob auf gewöhnlichem 2½proz. Nähragar mit V-Faktor wuchsen.

Bezeichnung der Stämme	Anaërobe Züchtung auf gew. Agar bei Zusatz des V-Faktors						Aërobe Züchtung unter gleichen Bedingungen	
	1. Kultur	Passagen: 1	2	3	4	5	1. Kultur	1. Passage
1. 954 I	st1sp5 plump	n1sp4	—	—	—	—	—	—
2. 954 II	—	—	—	—	—	—	—	—
3. H 6 I	n1st5 sp5	v3sp5 k1	n1sp3 v1	n1sp4	sp4	n1st1 sp4	n3st2	—
4. H 6 II	sp5	v3sp5 k1	n1sp5	sp5 dick	sp4 dick	n3sp5 dick	n3st2 plump	—
5. 1085	n3k2 v1	n4sp1	n5	n4sp4 blaß	n4v3	n2st1 v3sp4	sp5	n1sp1 blaß
6. Halle	n2v4 sp1	n1v3 sp5	n4sp2 v3	n1st5 v1	st4 sp2	n3	n2st3	n3v3
7. B.P. 4	—	—	—	—	—	—	st5sp1	n3v3
8. H 1	n2st4	sp5	n1sp5	n1st2 sp5	n4v3	sp5v3	—	—
9. Kinderklinik I	n5	n5	n5	n5st2	n5	n5	—	—
10. „ II	n4st1 k1	n5	n5	n5	n5	n5	n4st1	—
11. 945	n1sp5	—	—	—	—	—	v1st1	—
12. 693 I	—	—	—	—	—	—	—	—
13. 692 II	—	—	—	—	—	—	n1v3k4	—
14. 1952 I	n1v5	n1sp5	n2v4 sp3	sp4st4 v2	n2st4 sp4	st5 v4	—	—
15. 1952 II	n2v5	n1sp5	n2v4 sp3	n1st5 v2	n2sp4	n2st4 sp4	—	—
16. Augenbaz. Greifswald 1	n5	—	—	—	—	—	n1k2	—
17. „ „ 2 I	n1st4 k2	n5 sp1	—	—	—	—	st5sp2 v1	—
18. „ „ 2 II	n1st4 k2	n3v3 sp1	—	—	—	—	—	—
19. „ Lister Institut	st5	—	—	—	—	—	n1st2 k3	—
20. „ Köln	n5k1	n3st2 sp2	—	—	—	—	—	—
21. Baz Cohen	n2st4	n1v3 sp3	n4st2 v3	n4st2	n4v3 sp5	n3st2	n3st2 sp2	—
22. Liquor Köln I	—	—	—	—	—	—	—	—
23. „ „ II	—	—	—	—	—	—	—	—
24. Baz. M. (Bronchiektasie) I	n5v1	n5v1	—	—	—	—	—	—
25. „ „ „ II	n5v1	n5v1	—	—	—	—	—	—
26. Baz. Kanin	n1k4	n4v1 k1	—	—	—	—	—	—
27. „ canis I	n1v2	—	—	—	—	—	—	—
28. „ „ II	n1v2 k5	—	—	—	—	—	n1v2 k2	—

Die dritte und vierte Passage auf gewöhnlichem Nähragar (2½proz.) bei Zusatz des V-Faktors und anaërober Bebrütung glich der zweiten Passage. In der zweiten Passage wuchs aërob unter sonst gleichen Bedingungen nichts (s. Tab. III, S. 201).

Das Resultat dieses Versuches ist, zusammengefaßt, folgendes: Bei Anwesenheit des V-Faktors allein wuchsen von 28 Stämmen 22 anaërob und

14 aërob in erster Kultur. Wie aus Tabelle IV ersichtlich ist, sind die Wuchsformen bei der anaëroben Kultur vorherrschend normal, nur vereinzelt kommen Spirochäten- und Kugelformen vor; dies ist aber ein völlig anders Bild wie bei dem anaëroben Wachstum auf gewöhnlichem Nähragar ohne jeden Zusatz, das fast ausschließlich aus Degenerationsformen bestand. Einige Stämme: Augenbaz. Köln, Augenbaz. Greifswald 1, Baz. M. I und II, sind fast völlig normal. Gerade diese Stämme sind, bis auf Augenbaz. Greifswald 1, aërob nicht gewachsen. Die aëroben Kulturen zeigen, abgesehen davon, daß nur 14 Stämme in der ersten Kultur auf dem Nähragar bei Zusatz des V-Faktors wuchsen, fast ausschließlich mehr Involutionsformen als die anaëroben Kulturen.

Von den 22 Stämmen der 1. anaëroben Kultur ließen sich in erster Passage 18 züchten. Bac. canis I und II, Augenbaz. Lister-Institut und Stamm 945 zeigten in erster Passage kein Wachstum. Die Größe der Kolonien schwankt zwischen 102 und 646 μ, wie aus Tabelle III ersichtlich ist; die meisten Kolonien sind klar und rund, wenige rund und gekörnt bzw. gefasert und gezackt. Das mikroskopische Bild zeigt im wesentlichen völlig normale Formen, einige Stämme Vibrionen-, Spirochäten- und Kugelformen. Sehr gut wuchsen Stamm Kinderklinik I und II, Baz. M. I und II, Augenbaz. Greifswald 1, und Augenbaz. Köln.

Von den 14 Stämmen der 1. aëroben Kultur ließen sich in erster Passage nur noch 3 züchten. Mikroskopisch fanden sich neben reichlichen Involutionsformen spärlich normale I.B. Von diesen 3 Stämmen der ersten Passage (aërob) wuchs keiner mehr in zweiter Passage.

Von den 18 Stämmen der 1. anaëroben Passage ließen sich 10 Stämme in 2. Passage züchten (Augenbaz. Greifswald 1 war mit grampositiven Kokken verunreinigt). Die Größe der Kolonien schwankt zwischen 170 und 340 μ bei allen 10 Stämmen. Das Aussehen der Kolonien ist bei dem Stamm Kinderklinik I und II rund und klar, das der übrigen Stämme rund und gekörnt. Das mikroskopische Bild der Bazillenformen gleicht im Ganzen dem der ersten Passage. Diese 10 Stämme der 2. anaëroben Passage ließen sich durchweg bis zur fünften Passage züchten. Die mikroskopischen Bilder gleichen fast durchaus dem der 2. Passage; einige Stämme zeigten insofern leichte Veränderungen, als die normalen Formen hinter den längeren Formen zurücktraten. Die Größe der Kolonien nahm allmählich ab (Tab. III). Nach der 5. Passage wurde dieser Versuch abgebrochen. Ein vierter Versuch, bei dem von dem Stamm Kinder-

Tabelle V.

Bezeichnung der Stämme		1. Impf.	Passagen: 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kinderklinik	Größe der Kolonien	340	340	323	306	323	170	153	170	170	170	170
	Aussehen derselben	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar
	Formen der Bakterien	n5	n5	n5	n5	n5	n5	n5	n5	n5	n5	n5
Baz. Cohen	Größe der Kolonien	595	510	425	340	255	255	255	238	238	170	170
	Aussehen derselben	rund klar	rund klar	rund klar	rund klar	rund gekörnt	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
	Formen der Bakterien	n2 st3 v2	n1 v3	n2 v1 sp4	n4 v3 st2	n1 v3 sp5	n3 sp2	n2 v1 sp4	n3 sp3 st2	n2 st4	n3 sp4 st2	n3 sp4 st2

klinik und dem Bac. Cohen 10 Subkulturen auf gewöhnlichem 2½proz. Nähragar bei Zusatz des V-Faktors, der aus dem Phosphocrescin nach der Peters-Methode gewonnen wurde, angelegt wurden, verlief in ähnlicher Weise wie der dritte Versuch. Die Größe und das Aussehen der Kolonien, die Formen der Bazillen boten ein ähnliches Bild, wie aus Tabelle V hervorgeht.

Versuch D: Wachstum des Stammes Kinderklinik und des Bac. Cohen auf gewöhnlichem 2½proz. Nähragar mit dem V-Faktor (in Form des nach der Petersschen Methode aus dem Phosphocrescin gewonnenen Extraktes) in erster Impfung und 10 Subkulturen (s. Tab. V, S. 203).

Zusammenfassend läßt sich also sagen: Bestimmte Stämme des Bacillus influenzae (Pfeiffer), und zwar vornehmlich die, die aus Nasen-Rachensekreten gezüchtet wurden, lassen sich auf gewöhnlichem Nähragar, der nur den V-Faktor und nicht den X-Faktor enthält, unter anaëroben Bedingungen in Passagen züchten. Die Grundbeobachtung von Kopp, daß der X-Faktor für das Wachstum des I.B. unter anaëroben Bedingungen nicht notwendig ist, ja sogar wachstumshemmend wirkt, kann bestätigt werden. Dagegen läßt sich die Angabe, daß die anaëroben Subkulturen auf V-haltigem Agar mit den häufigeren Passagen immer besser wachsen, nicht bestätigen. Aber man gewinnt den Eindruck, als ob die Koloniegröße unter ein gewisses Minimum nicht herunter geht. Es scheint danach tatsächlich so zu sein, als ob die Rolle des X-Faktors im Blut oder Pflanzen bei aërober Züchtung nicht diejenige ist, den Sauerstoff zu übertragen, sondern im Gegenteil unter aëroben Bedingungen „anaërobe Verhältnisse" im Nährboden zu schaffen, also den Sauerstoff festzuhalten, so daß die Anwesenheit von freiem Sauerstoff, wie sie durch Diffusion in die Agargallerte jederzeit aus der atmosphärischen Luft stattfinden kann, ein schädigendes Moment für das Wachstum des I.B. darzustellen scheint. Der diesem Mechanismus zugrunde liegende Vorgang ist sehr schwer verständlich. Vor allem kann man sich kaum ein Bild davon machen, weshalb der X-Faktor unter anaëroben Bedingungen das Wachstum des I.B. hemmt bzw. aufhebt, und zwar bei bestimmter Konzentration völlig (Kopp). Es bleibt kaum etwas anderes übrig, als die Annahme, daß dem eisenhaltigen Blutfarbstoff mindestens drei verschiedene Funktionen zukommen: 1) die des Sauerstofftransportes bei lockerer Bindung, 2) vielleicht ein gewisses Sauerstoff-Uebertragungsvermögen, das seinerseits aber nicht aktiv, sondern rein passiv auf dem Sauerstoffgefälle von dem sauerstoffreicheren Nährboden zu dem sauerstoffärmeren Protoplasma der Bakterien nach Maßgabe von deren Stoffwechselleistungen beruht, und 3) unter bisher völlig unbekannten Bedingungen den Sauerstoff fest zu binden. Theoretische Erwägungen, ob hier noch verschiedene Substanzen eine Rolle spielen, ließen sich wohl darüber anstellen, doch wird darauf verzichtet, weil experimentelle Unterlagen für diese Hypothese noch völlig fehlen. Die Analyse dieser Versuche allerdings, dessen allgemein biologische Bedeutung von größtem Interesse sein dürfte, muß weiteren Arbeiten vorbehalten werden. Es will scheinen, als ob hier anaërobe und aërobe Stoffwechselleistungen in einen gewissen Gegensatz zueinander treten.

Es war nun von Interesse, ob sich vielleicht Stoffwechselleistungen bei den verschiedenen Gruppen der I.B. auffinden ließen, die mit dem Eintreten des aëroben und anaëroben Wachstums auf gewöhnlichem Nähragar bei Zusatz des V-Faktors in Zusammenhang stünden. Zu diesem Zwecke wurden 10 I.B.-Stämme ausgesucht und auf ihre Indolbildung geprüft; es befanden sich darunter Stämme, die bei anaërober Bebrütung auf gewöhnlichem Nähragar bei Zusatz des V-Faktors gar kein Wachstum, selbst nicht in erster Kultur gaben, wie solche, die ein sehr gutes anaërobes Wachstum über mehrere Passagen hindurch gaben.

Diese 10 Stämme zeigten ohne Uebereinstimmung mit dem anaëroben Wachstum aërob in X- und V-haltiger Nährbouillon Indolbildung (s. Tab. VI). Sämtliche 10 Stämme wurden aërob und anaërob in folgender Weise bebrütet: 1) in gewöhnlicher Nährbouillon, die nur den V-Faktor enthielt, 2) in gewöhnlicher Nährbouillon, die nur den X-Faktor enthielt und 3) in gewöhnlicher Nährbouillon, der der X- und der V-Faktor zugefügt wurde; nach einer Bebrütungszeit von 48 Std. wurde die Indolbildung nach Ehrlich (für bakteriologische Zwecke von A. Böhme modifiziert) geprüft. Dazu wurden folgende Stammlösungen benutzt:

1) Paradimethylamidobenzaldehyd 4
Alkohol (96 proz.) 380
Konzentr. Salzsäure 80
2) Kaliumpersulfat in gesättigter, wässeriger Lösung.

Zu 10 ccm Bouillonkultur werden 5 ccm der Lösung 1 und 5 ccm der Lösung 2 hinzugefügt. Sofort oder innerhalb weniger Minuten tritt bei Anwesenheit von Indol eine Rotfärbung auf. Der entstandene Farbstoff wurde aus der Flüssigkeit durch Amylalkohol ausgezogen. (Zu dieser Reaktion sei bemerkt, daß Derivate des Indols wie Skatol, Skatolaminoessigsäure und andere bei Verwendung von konzentrierter HCl mit Paradimethylamidobenzaldehyd durch Kondensation zur Bildung rotgefärbter Verbindungen führen. Bei obiger Vorschrift jedoch geben diese Derivate nach vorübergehender Rotfärbung eine blaue Farbe). Beimpft wurden diese Bouillonröhrchen mit je einer Normalöse des betreffenden I.B.-Stammes.

Versuch E: Prüfung der Indolbildung.

Tabelle VI.

Bezeichnung der Stämme	1. Gew. Nährbouillon bei Zusatz des X- und V-Faktors		2. Gew. Nährbouillon beim Zusatz des V-Faktors		3. Gew. Nährbouillon bei Zusatz des X-Faktors	
	aërob	anaërob	aërob	anaërob	aërob	anaërob
1. Kinderklinik	+	+	++	(+)	+	+
2. Baz. Cohen	+	+(+)	++	+	+	+
3. Halle	++	+	++	++	+++	+++
4. 1952	(+)	(+)	+	++	(+)	+
5. 1085	+	++	(+)	+	+	+
6. H 6	(+)	—	(+)	(+)	++	(+)
7. H 1	+	++	+++	+++	+++	+++
8. B.P. 4	+	++	(+)	(+)	+++	+++
9. 954	(+)	—	(+)	(+)	(+)	(+)
10. Augenbaz. Greifswald 2	(+)	—	(+)	(+)	(+)	(+)

Zeichenerklärung: (+): Schwache Indolbildung.
+: Mäßig starke Indolbildung.
++: Kräftige Indolbildung.
+++: Sehr kräftige Indolbildung.
—: Keine Indolbildung.

Eine Erklärung für die Tatsache, daß die I.B.-Stämme, die aus Nasen-Rachensekreten gezüchtet wurden, unter anaëroben Bedingungen auf gewöhnlichem Nähragar, der nur den V-Faktor enthält, ein gutes Wachstum in Passagen geben, daß aber Stämme anderen, nicht typischen Fundortes dieses Wachstum unter gleichen Bedingungen nicht geben, gibt die Prüfung der Stoffwechselleistung der Indolbildung, wie Tab. VI anzeigt, nicht. Die Stärke der Indolbildung ist je nach den Zusätzen von X oder V bei den einzelnen Stämmen verschieden. Bei X- und V-Anwesenheit findet im allgemeinen die geringste, bei X-Anwesenheit allein die stärkste Indolbildung statt. Die Tatsache,

daß es unter der letzten Bedingung in Bouillon überhaupt zu einem Wachstum der I.B. kommt, läßt sich zwanglos aus den mitübertragenen toten Bakterien erklären. Man darf wohl auch vermuten, daß unter diesen schlechtesten Bedingungen ein gesteigerter Eiweißzerfall vorhanden war, eine Annahme, die mit der Wirkung des Hämins auf den Eiweißabbau (Warburg) im Zusammenhang stehen dürfte. Wenn auch so eine Erklärung der anaëroben Indolbildung allein noch nicht ohne weiteres zu erbringen ist, so ergibt sich doch, daß diese Methode geeignet sein dürfte, die Stoffwechselwirkungen des Hämins und des X-Faktors isoliert ausführlich zu analysieren (Tab. VI, S. 205).

Zusammenfassung.

1) Der Bacillus influenzae (Pfeiffer) läßt sich anaërob auf gewöhnlichem Nähragar nicht in Passagen züchten. — 2) Bestimmte Stämme des I.B. (Pfeiffer) lassen sich auf gewöhnlichem Nähragar, der den V-Faktor enthält, unter anaëroben Bedingungen in Passagen züchten (Kopp). Die Formen dieser Kolonien und Bakterien sind fast durchweg normal. Es muß die Frage offen bleiben, ob die Degenerationsformen hier durch einen Mangel des Nährsubstrates hervorgerufen sind, oder ob nicht doch unter diesen erschwerten Bedingungen schädigende Stoffe aus dem V-haltigen Pflanzenextrakt zur Wirkung gelangen können. Eine Beantwortung dieser Frage wird erst möglich sein, wenn die V-Substanz in chemisch reiner Form vorliegt. — 5) Nicht alle, sondern nur bestimmte Stämme des I.B. geben anaërob auf gewöhnlichem Nähragar bei Zusatz des V-Faktors ein Wachstum in Passagen. Man kann also nach diesem Gesichtspunkt verschiedene Gruppen unterscheiden. Diese Gruppen scheinen 5) in einem Zusammenhang mit dem Fundort zu stehen, und zwar geben in diesen Versuchen die Stämme, die aus Nasen-Rachensekreten gewonnen wurden, zum größten Teil Wachstum in Passagen, während Stämme anderer, nicht typischer Fundorte kein Wachstum gaben. — 6) Die Bedeutung dieses Befundes scheint auf allgemeinbiologische Probleme, die die Funktion des Blutes, speziell des Hämoglobins betreffen, nicht ohne Einfluß zu sein.

Zum Schluß dieser Arbeit möchte ich hierdurch Herrn Privatdozent Dr. W. Kollath, der mir die Anregung zu dieser Arbeit gab und mich bei ihrer Durchführung in liebenswürdigster Weise unterstützte, meinen Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

1) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden. Bd. 3. 1910. S. 264. Berlin-Wien, Urban u. Schwarzenberg. — 2) A. Böhme, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. S. 129. — 3) v. Fenyvessy u. Kopp, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 98. S. 477. — 4) Knorr, Weichards Ergebn. Bd. 6. 1923. S. 350. — 5) Ders., Ebenda. Bd. 7. 1925. S. 641. — 6) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. S. 371 u. 385. — 7) Ders., Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 94. 1925. S. 161. — 8) Knorr u. Gehlen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. S. 295. — 9) Dies., Arch. f. Hyg. Bd. 94. 1924. S. 136. — 10) Kollath, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 588. — 11) Ders., Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 95. 1925. S. 279. — 12) Ders., Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 100. 1926. S. 97. — 13) Ders., Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 93. 1924. S. 506. — 14) Ders., Klin. Wochenschr. Jhrg. 5. 1926. Nr. 21. — 15) Ders., Ebenda. Jhrg. 6. 1927. Nr. 1. — 16) Ders., Med. Klin. 1928. Nr. 20. — 17) Kollath u. Leichtentritt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1926. S. 65. — 18) Kopp, Ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 105. 1927/28. S. 54. — 19) McIntosh a. Fildes, P., Lancet. 1916. I. p. 768. — 20) Pfeiffer, Dtsch. med. Wochenschr. 1925. Nr. 20. — 21) Thjötta, Journ. of exp. Med. Vol. 33. 1921. p. 736. — 22) Thjötta u. Avery, Journ. of exp. Med. Vol. 34. 1921. p. 455. — 23) Olitsky u. Gates, Ibid. 1920—1924. — Aeltere Literatur siehe in Nr. 4, 5, 10, 12, 13 21.

Lebenslauf.

Am 30. Januar 1903 wurde ich zu Elberfeld geboren. Ich besuchte die Gymnasien zu Elberfeld, Eichwalde bei Berlin und das staatliche St. Matthias-Gymnasium zu Breslau, wo ich im März 1924 das Abiturium bestand. Darauf studierte ich vier vorklinische Semester in Breslau und machte im März 1926 in Breslau das Physikum. Sechs klinische Semester studierte ich ebenfalls in Breslau und im Sommersemester 1929 bestand ich in Breslau das medizinische Staatsexamen. Ich bin katholischer Konfession, preußischer Staatsangehörigkeit.

Adolf Eirund.